



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya) frente
a *Escherichia coli* – Chiclayo 2021**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. Guisella Marisu Adrianzen Ruiz

Bach. Cедelia Vasquez Aguilera

ASESOR:

Mg. ROCÍO JERÓNIMA LÓPEZ CALDERÓN

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales - Fitoquímica

Huancayo – Perú

2021

Dedicatoria

A mi mamá, Liliana Ruiz Lozano que con su sacrificio pudo sacarme adelante.

A mi hermana y sobrina por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo.

A mi esposo Juan Alvarado, por sus palabras, su sacrificio.

Guisella Marisu Adrianzen Ruiz

A Dios, por haberme dado valor, conocimiento y fuerza, para superar cada uno de los obstáculos que fueron surgiendo en el camino y así poder lograr mis metas.

A mis hermanos, que han sido mi ejemplo y lucha para que este sueño se haga realidad

Cedelia Vasquez Aguilera

Agradecimiento

Dar gracias dios por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente por haber puesto en mi camino personas que han sido clave importante en nuestra vida profesional

De manera especial agradecemos a nuestra asesora Mg. Rocío Jerónima López, a Nuestro tutor Esp. Q.F. Martín Silva Romero, quienes han sido un aporte invaluable y participación activa en el desarrollo de esta tesis, debo destacar su capacidad y conocimiento científico, por encima de todo su disponibilidad, paciencia para guiarnos y facilitarnos los medios suficientes y culminar el desarrollo de esta tesis

JURADOS

PRESIDENTA:

Dra. Diana Esmeralda Andamayo Flores

SECRETARIA:

Mg. Martha Raquel Valderrama Sueldo

VOCAL:

Mg. Rocío Jerónima López Calderón

DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, **Guisella Marisu Adrianzen Ruiz** de nacionalidad peruana, identificada con DNI N° 42825671. Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliada en Mz. J lote 16 Urbanización la Florida - Santa Victoria – Chiclayo - Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTENTICA Y VERAZ, me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 31 días del mes de octubre del 2021.



Guisella Marisu Adrianzen Ruiz

DNI: 42825671

DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, **Cedelia Vasquez Aguilera** de nacionalidad peruana, identificada con DNI N° 45916759. Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Conj. Hab. Juan Tomis Stack Mz. A Lt. 15 – San José, Lambayeque, Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTENTICA Y VERAZ, me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 31 días del mes de octubre del 2021.



Cedelia Vasquez Aguilera

DNI: 45916759

ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. MÉTODO.....	21
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	21
2.2. Operacionalización de las variables.....	22
2.3. Población, muestra y muestreo	22
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	23
2.5. Procedimiento.....	25
2.6. Método de Análisis de datos recolectados	26
2.7. Aspectos éticos	26
III. RESULTADOS	27
IV. DISCUSIÓN	32
V. CONCLUSIONES.....	34
VI. RECOMENDACIONES.....	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
ANEXOS.....	41

Índice de Tablas

Tabla 1. Análisis de los datos para los grupos experimentales y control frente <i>Escherichia coli</i> :	27
Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos.....	28
Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas	29
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos.....	30
Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	30
Tabla 6. Valoración de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de papaya según escala de Duraffourd.....	31

Índice de Figuras

Figura 1. Gráfico de medias de los grupos experimentales y control.....	28
---	----

Índice de Anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia	42
Anexo 2. Operacionalización de las variables.....	44
Anexo 3. Instrumento de recolección de datos.....	45
Anexo 4. Validación del instrumento por Juicio de expertos	46
Anexo 5. Autorización de ejecución de Laboratorio microbiológico	49
Anexo 6. Compuestos fenólicos aislados en hojas de Carica papaya	50
Anexo 7. Certificación botánica.....	51
Anexo 8. Certificado de análisis de la cepa en estudio.....	52
Anexo 9. Esquema de aplicaciones en la medicina de los principios bio activos según el tipo de tejido aislado.	54
Anexo 10. Recolección de la muestra vegetal	55
Anexo 11. Selección, lavado y secado de la muestra	56
Anexo 12. Preparación del extracto etanólico	57
Anexo 13. Evaluación del efecto antibacteriano	58

RESUMEN

El presente trabajo de investigación buscó encontrar en las plantas medicinales una alternativa de solución para el tratamiento de las infecciones bacterianas, es así que se toma a *Carica papaya* (papaya) y *Escherichia coli* como objeto de estudio.

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021

Metodología: El tipo de investigación corresponde al analítico, transversal, prospectivo de diseño experimental con variables dependiente e independiente, la población corresponde a *Carica papaya* recolectada en el distrito de Lambayeque, Lambayeque; se recolecto la muestra mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, el extracto se obtuvo por maceración y se aplicó el método de difusión en pozo para determinar el efecto antibacteriano.

Resultados: En los resultados se encontró que el extracto etanólico de *Carica papaya* al 50% obtuvo halo de inhibición promedio de $10,28 \pm 0,28$ mm; el extracto etanólico al 100% obtuvo halo de $13,78 \pm 0,35$ mm; el control negativo obtuvo halo de inhibición promedio de $6,11 \pm 0,20$ mm y para el control positivo (ciprofloxacino) fue de $30,09 \pm 0,35$ mm,

Conclusión: Se logró determinar la presencia de actividad antibacteriana en los extractos etanólicos al 50% y 100% de *Carica papaya* frente *Escherichia coli*.

Palabras clave: Extracto etanólico, *Carica papaya*, *Escherichia coli*, antibacteriano

ABSTRACT

The present research work seeks to find in medicinal plants an alternative solution for the treatment of bacterial infections, which is why *Carica papaya* (papaya) and *Escherichia coli* are taken as the object of study.

Objective: Demonstrate in vitro antibacterial effect of *Carica papaya* (papaya) ethanolic extracts on *Escherichia coli* - Chiclayo 2021

Methodology: The research type corresponds to the analytical, cross-sectional, prospective experimental design with dependent and independent variables, the population corresponds to *Carica papaya* collected in the Lambayeque district, Lambayeque; The sample was collected by non-probabilistic convenience sampling, the extract was obtained by maceration and the well diffusion method was applied to determine the antibacterial effect.

Results: In the results it was found that the ethanolic extract of *Carica papaya* at 50% obtained an average inhibition halo of $10.28 + 0.28\text{mm}$; the 100% ethanolic extract obtained halo of $13.78 + 0.35\text{mm}$; the negative control obtained an average inhibition halo of $6.11 + 0.20\text{mm}$ and for the positive control (ciprofloxacin) it was $30.09 + 0.35\text{mm}$,

Conclusion: It was possible to determine the antibacterial presence activity in the 50% and 100% ethanolic extracts of *Carica papaya* on *Escherichia coli*.

Keywords: Ethanolic extract, *Carica papaya*, *Escherichia coli*, antibacterial.



I. INTRODUCCIÓN

Existe numerosas enfermedades que pueden atacar al hombre y llevarlo hasta la muerte, entre ellas las producidas por bacterias, hongos y virus incluyendo a los parásitos.¹ Entre estos microorganismos una de gran importancia corresponde al *Escherichia coli*, sin embargo, la mayoría de estas resultan ser inofensivas, las infecciones por este tipo de bacteria muestran sintomatología que va desde fiebre, cólicos, vómitos, inclusive diarrea con sangre; a pesar que la mayor parte de las personas infectadas se recuperan a los pocos días, en algunos casos puede llegar a ser mortal incluso en países con sistemas sanitarios más implementados, la forma de contagio de esta bacteria es mediante los alimentos.² Diversas organizaciones a nivel internacional como la OMS (Organización Mundial de la Salud) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) demostraron que *Escherichia coli* infecta a 0,6 de cada diez mil habitantes en africa; sin embargo, la cifra aumenta en los países de la región mediterránea con ciento treinta y seis casos de cien mil habitantes.³ También se ha reportados brotes en varios países de Europa y Norte América con 53 fallecidos, además de causar daños cuantiosos como el producido en Alemania, que causó 1,3 millones de dólares en la agricultura e industria y 236 millones de deuda con la Unión Europea.⁴ En el caso de los niños produce enfermedades diarreicas agudas, presentando una tasa de 0,8 a 2 millones de muertes en niños. En Colombia se observa una tasa de 0,75 niños fallecidos x cada mil niños.⁵ En nuestro país un estudio demostró que la tasa de crecimiento de resistencia bacteriana de este microorganismo en el tiempo, el estudio fue realizado en comunidades rurales de Moyobamba y Urubamba.⁶

Por tales razones, existe una gran problemática en torno a las infecciones producidas por *Escherichia coli* que afecta tanto a nivel local y mundial; por otro lado, las plantas medicinales siempre han sido materia de estudio por sus propiedades medicinales que presentan, tal es el caso de *Morinda citrifolia* (noni) quien ha mostrado actividad antibacteriana en diversos estudios, los que se presentan a continuación. **Entre los antecedentes nacionales** en las cuales se fundamentó nuestra investigación, tenemos a **Cahuana E. (2019)** en su investigación “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Carica papaya “Papaya” frente *Staphylococcus aureus* ATCC (American Type Culture Collection – Colección Americana de cultivo tipo) 25923

comparado con vancomicina, estudio in vitro” realizado en la ciudad de Trujillo, cuyo objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya). La metodología usada en el estudio fue el de extracción de los principios activos de *Carica papaya* previamente secada. Esto fue logrado mediante un proceso de maceración en etanol al 96° por un tiempo de 48 horas. El cultivo de *Staphylococcus aureus* fue trabajado siguiendo la metodología de Kirby Bauer, en donde a 4 concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%) de *Carica papaya* fueron sembrados en placas Petri. Se midieron los halos de inhibición y encontraron que a la concentración del 25% se observó halo inhibitorio de 10,60mm, al 50% se observó halo de 13,10mm, a la concentración del 75% de 15,80 mm y al 100% con 17,10 mm, pero menor a los discos de Vancomicina los cuales obtuvieron halo promedio de 22 mm. La conclusión propuesta por estudio es que el extracto etanólico de *Carica papaya* si posee efecto antibacteriano in vitro.⁷ En el estudio realizado por **Cedeño V. (2017)** titulado “Concentración Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de las hojas de carica papaya frente el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*” realizado en Trujillo, La Libertad, cuyo objetivo fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Carica papaya* sobre *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. La metodología que presentó el estudio consiste en un proceso obtención de las hojas de *Carica papaya*, secado por 48 horas y extracción mediante la maceración en alcohol etanólico por 48 horas. El extracto obtenido fue concentrado mediante evaporación y se prepararon diferentes diluciones para la aplicación en las placas Petri. Las bacterias fueron activadas en caldo y cultivadas en placas Petri siguiendo la metodología de Kirby Bauer. En los resultados se obtuvo que la concentración mínima del extracto etanólico de las hojas de *Carica papaya* que se necesitó para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* evaluado en las dos repeticiones es de 320 µg/mL y de *Listeria monocytogenes* evaluado en las dos repeticiones es de 10 µg/mL. La conclusión del estudio indica que la concentración mínima inhibitoria, del extracto etanólico de hojas de *Carica papaya* obtenido es capaz de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.⁸ Así mismo, el estudio realizado por **Rodríguez M. (2016)** titulado “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de *Carica papaya* (Papayo), frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” realizado en Iquitos, cuyo objetivo fue determinar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos e hidroalcohólicos de las hojas de *Carica papaya* (papayo) para lograrlo realizaron una extracción etanólica puro y otro mediante una

mezcla hidroalcohólica, cuyas muestras de hojas de *Carica papaya* hayan sido limpiadas y tratadas para realizar la extracción. Estas fueron secadas en la sombra y su extracción consistió en una maceración por 72 horas. Posteriormente los extractos fueron filtrados y secados en un rotavapor hasta lograr una concentración de 1:1 que es la formación de extracto fluido. Esto es la base para la realización de sucesivas diluciones para la comprobación antibacteriana. El método microbiológico usado ha sido el de Kirby Bauer, en donde a diferentes diluciones de los diferentes se sometieron al sembrado de las cepas de bacterias de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Después de hacer la experiencia, se encontró que la dilución más concentrada de extracto fue la que ejerce una mejor actividad antibacteriana por lo que el autor concluye que los extractos de las hojas de *Carica papaya* si tuvo efecto contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.⁹ Por otro lado, en su estudio **Córdova L. (2015)** titulado “Determinación de la actividad antimicrobiana de las semillas de *Carica papaya* L. “Papaya” in vitro frente a las cepas ATCC *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.” realizado en Arequipa, cuyo objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana de las semillas de *Carica papaya* in vitro sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. La metodología propuesta en la investigación fue en extraer las semillas de *Carica papaya* que después de proceder al secado se sometió a trituración. Posteriormente, estos mediante el equipo Soxhlet se obtuvieron los principios activos. A partir de estos se realizaron diferentes diluciones. Las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fueron diluidas en caldo y luego cultivadas en placa Petri siguiendo la metodología de Kirby Bauer. Los resultados que presentaron el estudio mostraron a una concentración mayor actividad antibacteriana relacionada con los halos de inhibición obtenidos de 10mm, 13mm, 14mm y 16mm para las concentraciones de 100ug/ml, 200ug/ml, 600ug/ml y 1500ug/ml por lo que finalmente, el estudio concluyo que los extractos de las semillas de *Carica papaya* si poseía efecto antibacteriano in vitro contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.¹⁰ A **nivel internacional** el estudio realizado por **Jahan S. et al (2018)** titulado “Determinación de la actividad antimicrobiana de algunas frutas comerciales (manzana, papaya, limón y fresa) contra las bacterias que causan infecciones del tracto urinario” realizado en Europa, cuyo objetivo planteado de este estudio fue determinar actividad antibacteriana en extractos de frutos de Limón, fresa, papaya y manzana. En la metodología que se presentó el estudio se obtuvieron los extractos metanólicos y etanólicos de los frutos de limón, fresa, papaya y manzana sometidos a desecado posterior, los extractos obtenidos fueron sembrados en placas

con cultivos de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Los resultados mostraron que los extractos etanólicos de limón y fresa fueron más potentes, con halos de inhibición de 15 mm, comparados con sus extractos metanólicos con halos de inhibición de 13mm. El estudio concluyó que los extractos de *Citrus limón* y *Fragaria ananassa* posee mayor actividad antibacteriana contra cepas de *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Otro estudio realizado por **Kashari O.**¹¹, et al. (2017) titulado “Actividad fitoquímica y antibacteriana del extracto de raíz de *Carica papaya* sobre algunos patógenos seleccionados” realizado en Iran, cuyo objetivo fue determinar la actividad antibacteriana del extracto de *Carica papaya* en algunas cepas bacterianas patógenas. La metodología que se plasma en la investigación fue secar las raíces de *Carica papaya* debidamente y luego por medio de maceración y extracción acuosa se obtuvieron los extractos que usaron en la inoculación en las placas Petri con cultivos de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Klebsiella pneumoniae*. Los resultados que se obtuvieron con respecto al efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Carica papaya* frente *Escherichia coli* se observó mediante la formación de halos de inhibición de 0mm, 7mm, 7mm y 8m para las concentraciones del 10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml y 40mg/ml respectivamente. La conclusión de la investigación es que los extractos hidoalcoholicos de las raíces de *Carica papaya* posee actividad antibacteriana contra cepas patógenas especialmente con *Staphylococcus aureus*. En el estudio que se realizó **Asghar N.**¹² et al. (2016) titulado “Diferencia de composición en la actividad antioxidante y antibacteriana de todas las partes de *Carica papaya* utilizando diferentes disolventes” realizado en Pakistán, cuyo objetivo fue determinar la composición y la actividad antibacteriana de las diferentes partes de *Carica papaya* usando diferentes solventes. La metodología que se presentó en el estudio fue el de la extracción con etanol y metanol y otros solventes durante 48 horas de maceración de las raíces, semillas, hojas, pulpa y flores de *Carica papaya*. El resultado del estudio arrojó que el efecto antibacteriano mostró que el extracto de pulpa fue el mejor para hacer frente a la acción infecciosa de las bacterias (halo de 15 mm). El trabajo concluyó que la *Carica papaya* tiene actividad antibacteriana y se descubrió que el etanol y el metanol son los mejores solventes de elección para extraer productos naturales para obtener los máximos beneficios medicinales. En el estudio que realizó **Bridge M.**¹³ et. al. (2015) titulado “Efecto antibacteriano de la combinación del extracto metanólico crudo de *Carica papaya* L. (papaya) y amoxicilina”

realizado en Cuba, cuyo objetivo fue determinar la actividad antibacteriana de la combinación del extracto metanólico crudo de *Carica papaya* L (papaya) y amoxicilina contra las cepas de ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* in vitro. Para alcanzar dicho objetivo usaron la metodología de extracción por percolación de las semillas previamente tratadas de *Carica papaya*, las cuales fueron trituradas. Posteriormente por medio de una mezcla hidroalcohólica se procedieron a extraer los principios activos de la muestra. El resultado de esta extracción fue filtrado y posteriormente pasó a la concentración por medio de un rotavapor circular que llevó el extracto a la concentración idea. Luego usando el método de Kirby Bauer se procedió a colocar las cepas ATCC en cada uno de las placas Petri con Agar. Las bacterias de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fueron activadas en caldo. Después de la incubación de 72 horas se observaron halos de inhibición que fueron medidos son 0.99 para *Escherichia coli* y 2.51 para *Staphylococcus*. Los autores concluyeron que el extracto de las semillas de *Carica papaya* si posee actividad antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* in vitro. En cuanto a **la base teórica** de la investigación se describieron los aspectos más importantes de la carica papaya como; *Carica papaya* es una planta herbácea de crecimiento rápido, de arbolado suave que alcanza de 2 a 10 m de altura. Las hojas son grandes (30-60 cm de largo), de color amarillo verdoso a verde oscuro, con lóbulos palmeados, dispuestas en espiral y agrupadas en la copa. En la medicina tradicional, las hojas de *Carica papaya* se han utilizado para el tratamiento del asma, cólicos, fiebre, beriberi (deficiencia de tiamina) y como abortivo en la India, para la malaria y el dengue en Sri Lanka, Pakistán, Malasia y cáncer en Vietnam y Australia.¹⁴ La *Carica papaya* se consume en todo el mundo, ya sea frescas o procesada como mermelada, dulces y pulpa, y para agregar el valor nutricional, se agregan otras partes de la planta (hojas y semillas), las hojas tienen altos contenidos de fibras alimenticias y compuestos polifenólicos, flavonoides, saponinas, proantocianinas, tocoferol e isotiocianato de bencilo.¹⁵ La **descripción taxonómica** de la planta es la siguiente: Reyno: Plantae, División: Magnoliophyta, Clase: Magnoliopsida, Orden: Brassicales, Familia: Caricaceae, Género: *Carica*, Especie: *Carica papaya*.¹⁶ En medicina popular, el jugo se usa para verrugas, cánceres, tumores, callos e induraciones de la piel. También se dice que los sinapismos preparados desde la raíz ayudan a los tumores del útero. Se dice que la fruta verde es ecbólica. La eficacia de algunos de los usos está bien documentada, incluidos aquellos como antihelmínticos; un antiemoéxico, posiblemente mediado por el alcaloide carpaína; y un

antimicrobiano de enterobacterias. Una de las proteínas importantes que se encuentra en la papaya es la papaína, esta además de hidrolizar proteínas, también lo hace con pequeños péptidos, aminos, esteroides, carbohidratos y grasas. La pepsina vegetal consiste en una mezcla de enzimas proteolíticas como son las enzimas cristalinas papaína y quimopapaína.¹⁷ Algunos estudios observaron la presencia de enzimas proteolíticas, como la quimopapaína, con propiedades antivirales, antifúngicas y antibacterianas.^{17,18} Se ha encontrado en diferentes investigaciones que los extractos de la papaya producen citotoxicidad a cultivos de células cancerígenas en diferentes tejidos y tipos de cáncer además de poseer propiedades antimicóticas y antibacterianas, lo que debe los componentes que presenta esta especie vegetal como: licopeno, ácido ferúlico, ácido caféico, kaempferol, quercetina, β -caroteno, β -criptoxantina y ácido p-coumárico. La actividad antioxidante de estos compuestos (carotenoides y compuestos fenólicos) también ha sido caracterizada en frutos de papaya en diversos estudios.¹⁸ **La extracción** es un proceso mediante el cual se obtienen los principios activos de las plantas secas, frescas o semisecas, entre los procedimientos para la obtención de estos principios activos tenemos a la **maceración etanólica**, en la cual se emplea como solvente extractivo el etanol, obteniendo como producto final el **extracto etanólico**.¹⁹ Por otro lado, *Escherichia coli* es un habitante comensal presente en el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Como comensal, vive en una asociación mutuamente beneficiosa con los huéspedes y rara vez causa enfermedades. Sin embargo, también es uno de los patógenos humanos y animales más comunes, además de crecer tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, la convierten en un organismo huésped importante en biotecnología. *E. coli* es muy útil en el campo de aplicación biomédico y es ampliamente utilizado en biotecnología del ADN recombinante.²⁰ Según Escherich 1885, la esta bacteria tiene la siguiente descripción taxonómica. Dominio: Bacteria, Filo: Proteobacteria, Clase: Gammaproteobacteria, Orden: Enterobacterales, Familia: Enterobacteriaceae, Género: Escherichia, Especie: *Escherichia coli*; esta bacteria es la principal causa de infecciones extraintestinales como meningitis neonatal, bacteriemia por gramnegativos, pielonefritis, cistitis y prostatitis. Paradójicamente, también es el miembro facultativo predominante de la flora intestinal humana normal. Extraintestinales patógenas de *E. coli* y comensales *E. coli* típicamente difieren con respecto a fondo y de virulencia atributos filogenéticos. Las cepas patógenas de *E. coli* se derivan principalmente del grupo filogenético B2 (y en menor medida del grupo D), tal como se define mediante electroforesis enzimática

multilocus. *E. coli* comensal, por el contrario, son característicamente del grupo filogenético A. Los grupos B2 y D comprenden diversos linajes evolutivos que, debido a sus asociaciones consistentes con varios síndromes de infección extraintestinal, se han llegado a considerar como "clones virulentos", como se define tradicionalmente en función de los serotipos O: K: H.²¹ Un sello distintivo de estos clones virulentos de *E. coli* es su posesión de factores de virulencia especializados (FV), rasgos que confieren potencial patógeno y que son característicamente poco frecuentes entre las cepas comensales. Las FV reconocidas de *E. coli* extraintestinal incluyen diversas adhesinas (p. Ej., Fimbrias P, fimbrias S y F1C, adhesinas específicas de Drantigen y fimbrias de tipo 1 (que, a diferencia de otras FV, están presentes en casi todas las *E. coli*), toxinas (p. ej., hemolisina y factor necrotizante citotóxico), sideróforos (p. ej., el sistema aerobactina), revestimientos de polisacáridos (p. ej., cápsulas del grupo II y del grupo III y lipopolisacárido [LPS]) e invasinas (p. ej., IbeA, también llamado Ibe10). Estos FV facilitan la colonización e invasión del hospedador, la evitación o alteración de los mecanismos de defensa del hospedador, la lesión de los tejidos del hospedador y / o la estimulación de una respuesta inflamatoria nociva del hospedador.²² Luego del análisis de los antecedentes y la problemática planteada, se formuló la siguiente **pregunta general de investigación** ¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* – Chiclayo 2021?. Así mismo, nos formulamos los problemas específicos: ¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 100% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli*- Chiclayo 2021?; ¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 50% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021? y ¿Cuál será el efecto comparado de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) con ciprofloxacino frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021? **Las razones que justificaron** el planteamiento de esta investigación se relacionaron con la problemática actual, donde existe un incremento en la resistencia bacteriana ocasionada por la evolución característica de las bacterias y el uso indiscriminado de los antibióticos por lo que resulta una prioridad buscar opciones que mejoren este problema social. Por lo tanto, el presente proyecto busco encontrar en las propiedades de la planta *Carica papaya* (papaya) de gran consumo en nuestra zona, una alternativa para contrarrestar esta problemática, al no existir estudios que demuestren o rechacen su efecto antibacteriano de manera concluyente, así mismo, los resultados del estudio permitirán contrarrestar un problema de salud al exponer una nueva alternativa de tratamiento

antibacteriana sin el uso de los medicamentos ni la generación de resistencia bacteriana, además permitirá aportar nuevo conocimiento para futuras investigaciones y generar un gran impacto en la sociedad al disminuir costos de tratamiento y disminuir sus riesgos. Del mismo modo se formularon **el objetivo general**: Demostrar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021 y los objetivos específicos se plantearon de la siguiente manera determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 100% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021, Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 50% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021 y comparar el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) con ciprofloxacino frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021. Así mismo, la **hipótesis planteada** del estudio fue la siguiente: Los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) presentan efecto antibacteriano frente *Escherichia coli* - Chiclayo 2021.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación²³

Es la clasificación o agrupación del método científico según el objetivo que persigue el estudio, el cual se ha clasificado en Analítico, porque establecerá la relación de las variables de estudio. Transversal, porque el estudio recolectará, identificará y analizará las variables en un solo tiempo. Prospectivo: Los resultados obtenidos serán analizados posterior a la experimentación.

2.1.2. Diseño de investigación²⁴

Son los métodos y técnicas elegidas por el investigador según su tipo de estudio, de tal manera, que el problema de la investigación sea analizado sistemáticamente. El diseño del estudio fue experimental, porque presentó una relación de causa-efecto entre las variables dependiente e independiente, existiendo manipulación de estas por parte de los investigadores:

G1	X1	O1
G1	-	O2
G1	+	O3

G1: Cepas de *Escherichia coli*

X1: Tratamiento experimental

- Control negativo, sin tratamiento.

+ Control positivo

2.2. Operacionalización de las variables

Variables independiente	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida/ punto de corte
<i>Planta de Carica papaya (papaya)</i>	Producto obtenido extracción con solvente etanol	Extracto etanólico de <i>Carica papaya</i> (papaya)	Concentración 100%	Porcentaje
			Concentración 50%	
Variables dependiente	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida/ punto de corte
Cepa de <i>E. coli</i>	Capacidad de inhibir el crecimiento o matar las bacterias	Efecto antibacteriano in vitro	Tamaño del halo de inhibición: $\leq 8\text{mm}$ 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Nula Sensible Medio Muy sensible

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población

Es el conjunto de individuos que son el objeto de estudio en la investigación, estuvo conformada por *Carica papaya* recolectada en el distrito de Lambayeque, departamento de Lambayeque.²⁵

2.3.2. Muestra

Es parte representativa de la población que permite hacer viable una investigación con una parte representativa de estas con las mismas características²⁵. La muestra del estudio fue el extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya)

Criterios de inclusión

- Muestras vegetales con identificación taxonómica
- Muestras vegetales en buen estado

Criterios de exclusión

- Muestras contaminadas
- Muestras no obtenidas directamente de la planta
- Muestras sin identificación taxonómica

2.3.3. Muestreo

Es el procedimiento mediante el cual permite la selección de la muestra representativa de la población es estudio con características similares, el estudio presentó un muestreo no probabilístico por conveniencia, debido a que las muestras fueron recolectadas de un solo lugar atendiendo a la cercanía de la zona, el acceso.

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1. Técnicas: Son los tipos de procedimientos o métodos empleados con el fin de obtener datos que sirvan para el objetivo del estudio.²⁶

EXTRACCIÓN ALCOHÓLICA: Proceso físico en el cual participa como solvente un alcohol y un soluto como una muestra vegetal, en este proceso el solvente actúa extrayendo los principios activos o componentes del soluto sometiendo la muestra a un solvente que en este caso es el etanol²⁷.

DIFUSIÓN EN AGAR (KIRBY - BAUER): Mediante la aplicación de discos con muestras a analizar colocados sobre un cultivo de bacterias se puede determinar su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de estas.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos: Es el recurso que permite al investigador obtener información o datos de las variables del estudio.²⁸

Cuadro de datos: Se registró en un cuadro de datos los resultados obtenidos de la experimentación el cual fue validado por 3 expertos mediante juicio de expertos.

Vernier digital: Que servirá para medir los diámetros de los halos producidos

2.5. Procedimiento

Recolección de la muestra:

La muestra fue adquirida en el distrito de Lambayeque, departamento de Lambayeque en una cantidad de 2500 gr. las muestras fueron llevadas al laboratorio para seleccionarlas según los criterios de inclusión y exclusión, luego se procedió a eliminar la suciedad y contaminantes con agua a chorro por 15 minutos y lejía al 0,5% por 5 minutos.

Preparación del extracto etanólico:

Las hojas lavadas fueron secadas a temperatura ambiente por 48 horas bajo sombra, luego fueron llevadas a estufa a 50°C hasta deshidratación completa por un periodo de 8 horas luego del cual fueron pulverizadas en un molino de cuchillas manual y tamizadas para uniformizar el tamaño de las partículas, el tamizado fue colocado en un frasco de vidrio ámbar de capacidad de 2500ml y se agregó 800 ml de etanol de 96°, se llevó a maceración por un periodo de tiempo de 10 días con agitación constante cada 12 horas por 5 minutos, luego se filtro y nuevamente se llevó a estufa a 50°C hasta evaporación completa del solvente. Del extracto obtenido se pesó 100 mg y agregará 1 ml de etanol, obteniendo una concentración de 100 mg/ml para la concentración del 100%, a partir de esta se preparó la concentración al 50%.

Activación de las cepas ATCC (Colección Americana de Cultivos Tipo)

Las cepas microbiológicas ATCC una vez activadas de acuerdo a las indicaciones del proveedor, se colocaron en un medio agar nutritivo Müller Hinton para aumentar su crecimiento y producir colonias exponencialmente.

Se comparó la concentración de las colonias a través de la relación de turbidez mediante la escala de Mc-Farland 0.5, una vez obtenida esta concentración en el cultivo se extrajo con un hisopo o asa bacteriológica una cantidad suficiente para esparcirla sobre la placa Petri.

Evaluación del efecto del efecto antibacteriano

Con pinzas estériles se colocaron en cada placa cuatro (4) discos de papel de filtro de la manera siguiente:

1 disco con 15 ul de alcohol etílico 96% (control negativo).

2 disco con 15 ul de extracto etanólico de *Carica papaya* al 50% y 100%

1 disco con ciprofloxacino (100mg/ml)

Las muestras se incubaron por 24 horas a 35°C, una vez transcurrido este tiempo se procedió a tomar las medidas del diámetro de los halos de producidos.

2.6. Método de Análisis de datos recolectados

El análisis de los datos recolectados se analizó por medio de un análisis estadístico mediante estadística descriptiva e inferencial empleando tablas de frecuencia y porcentajes, del mismo modo, se realizaron pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey mediante el programa estadístico SPSS versión 26 con un nivel de confianza del 95%

2.7. Aspectos éticos

Se tomó las consideraciones referidas en el manual de ética de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt. La investigación planteada mantuvo los criterios éticos de confidencialidad y respeto a los participantes, manteniendo en todo momento los criterios éticos de no maleficiencia y cuidado del medio ambiente, para lo cual se respetaron las normas de bioseguridad y eliminación de residuos biocontaminados.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Análisis de los datos para los grupos experimentales y control frente *Escherichia coli*:

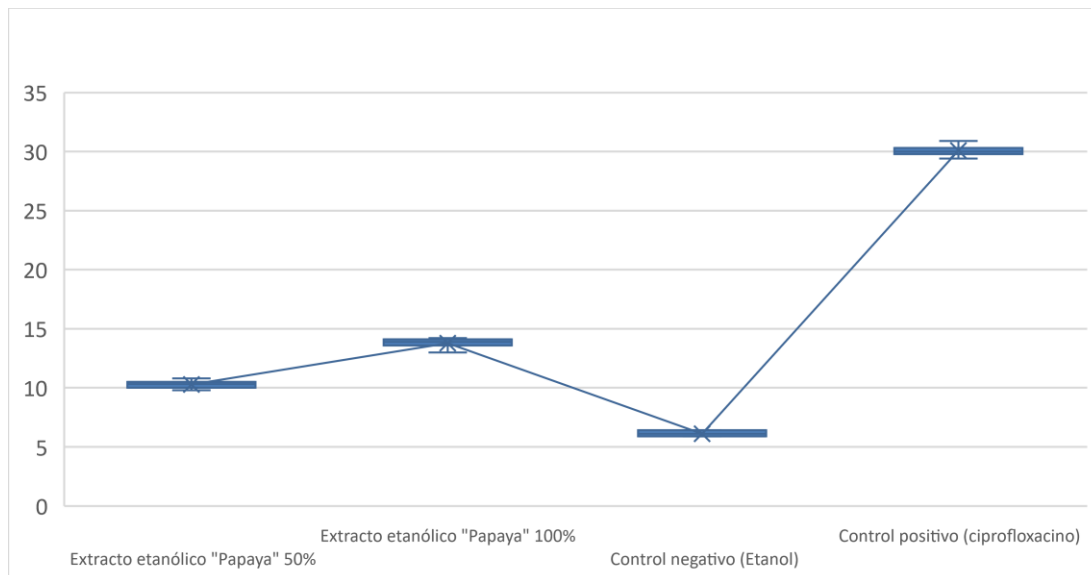
Grupos	N	Media	Std. Desviación	Std. Error	Intervalo de la media 95% confianza		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Extracto etanólico "Papaya" 50%	15	10,28	0,28	0,07	10,12	10,44	9,80	10,80
Extracto etanólico "Papaya" 100%	15	13,78	0,35	0,09	13,58	13,98	13,00	14,20
Control (Etanol) negativo	15	6,11	0,20	0,05	6,00	6,23	5,90	6,40
Control (ciprofloxacino) positivo	15	30,09	0,35	0,09	29,89	30,28	29,40	30,90

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se muestra los datos analizados por grupo de tratamiento y control, donde se muestra la estadística descriptiva de estos, se observa que el extracto etanólico de papaya al 50% obtuvo halo de inhibición promedio de $10,28 \pm 0,28\text{mm}$; el extracto etanólico de papaya al 100% obtuvo halo de $13,78 \pm 0,35\text{mm}$; el control negativo obtuvo halo de inhibición promedio de $6,11 \pm 0,20\text{mm}$ y para el control positivo (ciprofloxacino) fue de $30,09 \pm 0,35\text{mm}$, así mismo, se analizaron las medidas de dispersión como desviación estándar, error estándar, los límites superior e inferior con un nivel de confianza del 95% y los valores máximo y mínimo encontrados.

Figura 1. Gráfico de medias de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se aprecia en el gráfico los valores promedio de los halos de inhibición de los grupos de trabajo donde se puede comparar su comportamiento en relación a su efecto antibacteriano obtenido al enfrentarse a cultivos in vitro de *Escherichia coli*, se observa un incremento en el tamaño del halo de inhibición obtenido en los grupos experimentales el cual es directamente proporcional a la concentración del extracto etanólico de papaya, el control negativo y positivo muestran diferencias marcadas con respecto a los grupos experimentales.

Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos

Grupos de trabajo		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Extracto etanólico "Papaya" 50%	0,122	15	0,200*	0,976	15	0,931
	Extracto etanólico "Papaya" 100%	0,166	15	0,200*	0,904	15	0,109
	Control negativo (Etanol)	0,193	15	0,138	0,827	15	0,008

Control	positivo	0,198	15	0,118	0,943	15	0,422
(ciprofloxacino)							

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se muestra el análisis de la distribución normal de los grupos de datos en función a la media de cada grupos analizados, observándose una distribución normal en todos los grupos de datos mediante las pruebas de Kolmogorov Smirnov y Shapiro Wilk, dichas pruebas sirven para confirmar si los grupos de datos estudiados poseen una distribución normal, al comparar el p-valor de la tabla 2 en las dos pruebas inferenciales con el nivel de significancia de 0,05; se observa un valor de significancia calculado mayor que el 0.05; por lo tanto, se infiere que poseen distribución normal.

Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas

		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	1,191	3	56	0,321
	Based on Median	0,749	3	56	0,528
	Based on Median and with adjusted df	0,749	3	44,188	0,529
	Based on trimmed mean	1,116	3	56	0,351

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se observa el análisis de la homogeneidad de las varianzas con respecto a la media obtenida en los halos de inhibición mediante la Prueba de Levene, del análisis se demuestra que todos los grupos analizados poseen homogeneidad u homocedasticidad al verificar un p-valor superior a 0,05.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	4954,954	3	1651,651	17915,639	0,000
Dentro de los grupos	5,163	56	0,092		
Total	4960,117	59			

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se determinó mediante la prueba de análisis de la varianza (ANOVA) diferencia significativa entre las medias de los halos de inhibición obtenidos de los grupos de datos analizados al comparar el p-valor con el valor de significancia alfa de 0,05; por lo tanto, al observarse un p-valor inferior a 0,05 se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna que confirma que existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los halos de inhibición en al menos uno de los grupos de datos analizados.

Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro del halo de inhibición (mm)					
Tukey HSD ^a					
Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Control negativo (Etanol)	15	6,1133			
Extracto etanólico "Papaya" 50%	15		10,2800		
Extracto etanólico "Papaya" 100%	15			13,7800	
Control positivo (ciprofloxacino)	15				30,0867
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se observa el análisis por sub grupos homogéneos realizado mediante la prueba de Tukey donde nos permite determinar las diferencias significativas entre cada grupo de datos analizados, determinándose que todos los grupos de trabajo presentan diferente efectividad antibacteriana contra *Escherichia coli*. Se observa así mismo, que ciprofloxacino presenta mayor efecto antibacteriano seguido por el extracto etanólico de papaya al 100% y 50%.

Tabla 6. Valoración de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de papaya según escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	≤ 8 mm	8–14 mm	15-20 mm	> 20 mm
Control negativo (Etanol)	6,11			
Extracto etanólico "Papaya" 50%		10,28		
Extracto etanólico "Papaya" 100%		13,78		
Control positivo (ciprofloxacino)				30,08

Interpretación:

Se realizó el análisis comparativo del tamaño del halo de inhibición formado frente la cepa de *Escherichia coli* por el extracto etanólico de papaya mediante la escala de Duraffourd, se observa que *Escherichia coli* es sensible a los extractos etanólicos de papaya al 50% y 100%, es sumamente sensible al ciprofloxacino y presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol).

IV. DISCUSIÓN

La *Escherichia coli* es una de las bacterias que ha demostrado un elevado poder infectivo contra el ser humano, provocando complicados problemas de salud, por otro lado, su facilidad para obtener resistencia a los antibióticos la vuelve un problema de salud a nivel mundial, en tal sentido, buscar alternativas de solución que mejoren las condiciones de vida de los pacientes contagiados por esta bacteria es primordial, por tal razón, se empleó el extracto de las hojas de *Carica papaya* (papaya) para demostrar su efectividad antibacteriana contra este microorganismo, el análisis de los resultados se detallan a continuación.

Con respecto al primer objetivo se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya) al 100% frente *Escherichia coli* obtuvo halo de inhibición promedio de $13,78 \pm 0,35$ mm, por su parte los grupos control, negativo obtuvo halo de inhibición de $6,11 \pm 0,20$ mm y positivo de $30,09 \pm 0,35$ mm. Los resultados del mismo modo se **corroboran** en cuanto a su efecto antibacteriano con los estudios realizados por Cedeño V. (2017) titulado “Concentración Minina Inhibitoria del extracto etanolico de las hojas de *Carica papaya* frente el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*” demuestra del mismo modo, el poder antibacteriano de los extractos etanólicos de *Carica papaya a pesar de haber* enfrentarlos a estas bacterias encontró que la concentración mínima del extracto etanólico de las hojas de *Carica papaya* que se necesitó para inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* evaluado es de 320 μ g/mL.y de *Listeria monocytogenes* evaluado en las dos repeticiones es de 10 μ g/mL. Así mismo, se **corrobora** con el estudio realizado por Rodríguez M. (2017) titulado “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de *Carica papaya* (Papayo), frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*” al analizar los resultados se observó que los extractos etanólico e hidroalcohólico de hojas de *Carica papaya* (papayo) presentaron actividad antibacteriana a dichas concentraciones a las concentración del 100%.

Con respecto al segundo objetivo se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya) al 50% frente *Escherichia coli* mediante el análisis del tamaño de los halos de inhibición formado sobre la placa con el cultivo de la bacteria, se obtuvo un halo de inhibición de $10,28 \pm 0,28$ mm, el estudio realizado por Cahuana E. (2019), cuyo

objetivo fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Carica papaya* frente *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*; en sus resultados obtuvo halos de inhibición promedio de a la concentración del 25% de 10,60mm, al 50% se observó halo de 13,10mm, a la concentración del 75% de 15,80 mm y al 100% con 17,10 mm; estos resultados se muestran **similares** a los encontrados en nuestro estudio.

Por otro lado, Córdova L. (2015) en su investigación titulada, “Determinación de la actividad antimicrobiana de las semillas de *Carica papaya* L. “Papaya” obtuvo halos de inhibición de 10mm, 13mm, 14mm y 16mm para las concentraciones de 100ug/ml, 200ug/ml, 600ug/ml y 1500ug/ml resultados que se **corroboran** con lo obtenidos en el estudio a similares concentraciones. Sin embargo, los resultados se **contraponen** con el estudio de Kashari O, et (2017) titulado “Actividad fitoquímica y antibacteriana del extracto de raíz de *Carica papaya* sobre algunos patógenos seleccionados” encontró halos de inhibición de 0mm, 7mm, 7mm y 8m para las concentraciones del 10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml y 40mg/ml respectivamente.

Con respecto al tercer objetivo, el efecto antibacteriano comparado de los extractos etanólicos de *Carica papaya* (papaya) con ciprofloxacino frente *Escherichia coli* fue analizado en la tabla 4 y 5 mediante la prueba de Análisis de la Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey, para tal efecto, se realizaron pruebas previas de normalidad y homogeneidad de varianzas. Los resultados mostraron con un nivel de confianza del 95%, diferencias significativas entre las medias de los grupos de datos, demostrando la presencia de efecto antibacteriano superior

La sensibilidad de *Escherichia coli* también se evaluó tomando en consideración la escala de Durafourd mostrada en la tabla 6, donde se observa que la bacteria en mención presenta **sensibilidad nula** al control negativo (etanol), es **sensible** al extracto etanólico de *Carica papaya* (papaya) al 50% y 100% y es **sumamente sensible** al control positivo (ciprofloxacino)

V. CONCLUSIONES.

1. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 100% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* mediante la formación de un halo de inhibición de diámetro promedio de $13,78 \pm 0,35$ mm.
2. Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 50% de *Carica papaya* (papaya) frente *Escherichia coli* mediante la formación de un halo de inhibición de diámetro promedio de $10,28 \pm 0,28$ mm.
3. Los extractos etanólicos obtenidos de las hojas de *Carica papaya* (papaya) al 50% y 100% presentan menor efecto antibacteriano frente *Escherichia coli* que el efecto producido por el control positivo de ciprofloxacino.

VI. RECOMENDACIONES

- 1 Realizar estudios fitoquímicos que permitan determinar los metabolitos secundarios participantes en la actividad antibacteriana de *Carica papaya* “papaya”.
- 2 Realizar estudios in vivo pre clínicos que demuestren el efecto antibacteriano en animales de los extractos de *Carica papaya* “papaya”.
- 3 Evaluar la calidad y efectividad de formulaciones farmacéuticas con principio activo eficaz para combatir *Escherichia coli*.
- 4 Realizar estudios de toxicidad de los extractos etanólicos de *Carica papaya* “papaya”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. López C. La OMS sitúa a las enfermedades infecciosas en su punto de mira [Internet]. Gaceta Médica. 2019. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://gacetamedica.com/politica/la-oms-situa-a-las-enfermedades-infecciosas-en-su-punto-de-mira-hd1894810/>
2. OMS. Inocuidad de los alimentos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2020. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
3. OMS/FAO. Informe de la OMS/FAO sobre la evaluación del riesgo de E.coli productora de toxina Shiga [Internet]. Higiene Ambiental. 2018. [citado el 21 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/informe-de-la-omsfao-sobre-la-evaluacion-del-riesgo-de-ecoli-productora-de-toxina-shiga>
4. OMS. Escherichia coli [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2018. [citado el 19 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
5. Gómez O. Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli enteropatógenas. Rev Chil Infectología [Internet]. 2015. [citado el 22 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n5/art10.pdf>
6. Alzamora M, Echevarría A, Ferraro V, Riveros M, Zambruni M, Ochoa T. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de Escherichia coli en niños de dos comunidades rurales peruanas. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2019. [citado el 22 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v36n3/1726-4642-rins-36-03-459.pdf>

7. Cahuana E. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de Carica papaya “papaya” sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con vancomicina, estudio in vitro [Internet]. Universidad César Vallejo; 2019. [citado el 24 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/29791/cahuana_1le.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Cedeño V. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto etanolico de las hojas de carica papaya sobre el crecimiento de Listeria monocytogenes y Staphylococcus aureus [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2017. [citado el 25 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10866/CedeñoNeyra%2CVaniaAlejandra.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Rodríguez M. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico e hidroalcoholico de hojas de Carica papaya (papayo), frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli, por el método de macrodilución [Internet]. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. [citado el 25 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3659>
10. Córdova L. Determinación de la actividad antimicrobiana de las semillas de Carica papaya L «papaya» in viro frente a las cepas ATCC Staphylococcus aureus y Escherichia coli [Internet]. Universidad Católica de Santa María; 2015. [citado el 27 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3859>
11. Kashari O, Osesua B, Danjumma B, Udeme A. Actividad fitoquímica y antibacteriana del extracto de raíz de papaya Carica en algunos patógenos seleccionados. Continental J Biol Sci [Internet]. 2017. [citado el 29 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://zenodo.org/record/1129336#.YbFUmr3MKUk>

12. Asghar N, Naqvi S, Hussain Z, Rasool N, Khan Z, Shahzad S, et al. Diferencia de composición en la actividad antioxidante y antibacteriana de todas las partes de la papaya *Carica* utilizando diferentes disolventes. *Chem Cent J* [Internet]. 2016. [citado el 01 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://bmcchem.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13065-016-0149-0.pdf>
13. Bridge M, Dominguez G, Betancourt M, Katawera V, Nkwangu D, Oweta J. Efecto antibacteriano de la combinación del extracto metanólico crudo de *Carica papaya* L. (papaya) y amoxicilina. *Rev Cuba Plantas Med* [Internet]. 2015. [citado el 01 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n4/pla09415.pdf>
14. Callixte C, Baptiste N, Arwati H. Detección fitoquímica y actividades antimicrobianas de extractos de hojas metanólicas y acuosas de papaya *Carica* cultivada en Ruanda. *Mol Cell Biomed Sci* [Internet]. 2020;4(1):39-44. [citado el 03 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://cellbiopharm.com/ojs/index.php/MCBS/article/view/74/48>
15. Castilla C. Determinación del efecto antibacteriano in vitro del extracto de hojas de *Carica pubescens* L. (Caricaceae) "Papaya Arequipeña" frente a bacterias patógenas. [Internet]. Universidad Nacional de San Agustín; 2016. [citado el 01 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/1855/BIcacoca.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Padoin D, Assumpção D, Meili L, Hiromitsu E, Dotto G. Secado convectivo de semillas de papaya (*Carica papaya* L.) y optimización de la extracción de aceite. [Internet]. 2016. [citado el 20 de octubre de 2021]. Disponible en la URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669016301534>

17. Jiménez J. El Cultivo de la Papaya Hawaiana [Internet]. Rincon L, Russo R, Botero R, Ruperto J, editores. Editorial EARTH; 2002. [citado 05 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/90022688.pdf>
18. Conabio C. Carica papaya [Internet]. Mexico; 2005. [citado el 05 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/23-caric1m.pdf
19. Farmacopea Británica. Extractos. En: British Pharmacopoeia Vol III [Internet]. 2017. [citado el 06 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
20. Du S, Lutkenhaus J. Montaje y activación del divisoma de Escherichia coli. Mol Microbiol [Internet]. 2017. [citado el 09 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/mmi.13696>
21. Hualla Y. Evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica in vitro del aceite esencial del Chenopodium ambrosioides L. (paico) frente a Escherichia coli, Y Candida albicans, JULIACA-2019 [Internet]. Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez; 2020. [citado el 11 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: http://repositorio.uancv.edu.pe/bitstream/handle/UANCV/5865/T036_70250837_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
22. Flores G. Análisis del perfil metabólico en Carica papaya durante estrés generado por sequía [Internet]. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.; 2017. [citado el 11 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/435/1/PCB_BT_M_Tesis_2017_Flores_Gabriela.pdf
23. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). Rev Cient

- Mundo la Investig y el Conoc [Internet]. 2020. [citado el 13 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
24. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística [Internet]. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. [citado el 15 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://www.digitaliapublishing.com/a/29778/metodologia-de-la-investigacion-cientifica-y-bioestadistica--2a-ed.->
25. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. [citado el 20 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
26. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. Rev Científica del Inst Nac Salud «Alerta» [Internet]. 2019. [citado el 20 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
27. Calle G, Palacios A. Caracterización Farmacognóstica y fitoquímica de la especie *Prosopis pallida*, cultivada en la comuna Chanduy - Santa Elena. [Internet]. Universidad de Guayaquil; 2018. [citado el 28 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/33607>
28. Otero A. Enfoques de Investigación. En: Métodos para el diseño del proyecto de investigación [Internet]. 2018. [citado el 30 de noviembre de 2021]. Disponible en la URL: https://www.researchgate.net/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Autor (es): Guisella Marisu Adrianzen Ruiz / Cедelia Vasquez Aguilera
Tema: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Carica papaya</i> (PAPAYA) FRENTE A <i>Escherichia coli</i>

Problema general	Objetivo general	Hipótesis General	Variables y dimensiones	Metodología
¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de <i>Carica papaya</i> (papaya) frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021?	Demostrar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólicos de <i>Carica papaya</i> (papaya) frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021	Los extractos etanólicos de <i>Carica papaya</i> (papaya) presentan efecto antibacteriano frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021	Variable Independiente (x) X1: Planta <i>Carica papaya</i> (papaya) Dimensiones: Extracto etanólico de <i>Carica papaya</i> (papaya)	Alcance de la investigación: Cuantitativo Método de la investigación: Transversal y prospectivo Diseño de la investigación: Experimental
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas		
¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 100% de <i>Carica papaya</i> (papaya) frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 100% de <i>Carica papaya</i> (papaya) frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021	El extracto etanólico al 100% de <i>Carica papaya</i> (papaya) presenta efecto antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021	Variable Dependiente (y) Y1: Cepa de <i>Escherichia coli</i> Dimensión:	Población: <i>Carica papaya</i> (papaya) Muestra: Extracto etanólico de <i>Carica papaya</i> (papaya)
¿Cuál será el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 50% de	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico al 50% de <i>Carica papaya</i>	El extracto etanólico al 50% de <i>Carica papaya</i> (papaya) presenta efecto	Efecto antibacteriano in vitro	Técnicas de recopilación de información: Extracción etanólica Difusión en agar

<p><i>Carica papaya</i> (papaya) frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021?</p> <p>¿Cuál será el efecto comparado de los extractos etanólicos de <i>Carica papaya</i> (papaya) con ciprofloxacino frente a <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021?</p>	<p>(papaya) frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de <i>Carica papaya</i> (papaya) con ciprofloxacino frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021</p>	<p>antibacteriano in vitro frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021</p> <p>El extracto etanólico de <i>Carica papaya</i> (papaya) presenta mayor efecto antibacteriano que el ciprofloxacino frente <i>Escherichia coli</i> - Chiclayo 2021</p>		<p>Técnicas de procesamiento de información:</p> <p>Estadística descriptiva y ANOVA y Tukey mediante SPSS 26</p>
--	--	---	--	---

Anexo 2. Operacionalización de las variables

Variables dependiente	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida/ punto de corte
<i>Planta de Carica papaya (papaya)</i>	Producto obtenido extracción con solvente etanol	<i>Extracto etanólico de Carica papaya (papaya)</i>	Concentración 100 %	Porcentaje
			Concentración 50 %	
Variables independiente	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida/ punto de Corte
Cepa de <i>E. coli</i>	Capacidad de inhibir el crecimiento o matar las bacterias	Efecto antibacteriano in vitro	Tamaño del halo de inhibición: $\leq 8\text{mm}$ 8mm a 14mm 15mm a 20mm $> a 20\text{mm}$	Nula Sensible Medio Muy sensible


Anexo 3. Instrumento de recolección de datos

Placa	Control positivo (Ciprofloxacino) (mm)	Control negativo etanol (mm)	<i>Extracto etanólico de Carica papaya (papaya)</i>	
			50% (mm)	100% (mm)
1	30,4	5,9	10,2	14,1
2	29,8	6,4	10,8	13,7
3	30,0	6,4	10,5	14,0
4	30,0	6,1	10,0	14,0
5	30,2	6,4	9,8	13,7
6	30,0	5,9	10,3	14,1
7	30,3	6,1	9,9	14,1
8	30,3	5,9	10,0	13,8
9	30,9	6,1	10,3	13,9
10	29,4	5,9	10,5	13,4
11	29,8	6,2	10,4	13,6
12	30,0	6,0	10,2	13,2
13	30,0	5,9	10,2	13,0
14	30,4	6,4	10,7	14,2
15	29,8	6,1	10,4	13,9

PROMEDIO DE VALORACIÓN

95

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e)  Muy buena

Nombres y Apellidos : Rocío Jerónima López Calderón
DNI N° : ...20075533... Teléfono /Celular :954931834.....
Dirección domiciliaria :Jr. Rosemberg N° 327 El Tambo.....
Título Profesional :Químico Farmacéutico.....
Grado Académico :Magister.....
Mención :Problemas de Aprendizaje.....



Firma
Lugar y fecha: 16 de octubre del 2021.....

PROMEDIO DE VALORACIÓN

95

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) Muy buena

Nombres y Apellidos : DIANA ESMERALDA ANDAMAYO FLORES

Apellidos

DNI N° : 20078864

Teléfono : 964884831

/Celular

Dirección : LORETO 569

domiciliaria

Título Profesional : QUÍMICO FARMACÉUTICO

Grado Académico : DOCTORA

Mención : FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Firma

Lugar y fecha: Huancayo, 16 de octubre del 2021

Anexo 5. Autorización de ejecución de Laboratorio microbiológico



CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que Guisella Marisu Adrianzen Ruiz y Cedeia Vasquez Aguilera, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación titulado "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Carica papaya* (PAPAYA) FRENTE A *Escherichia coli*" en nuestras instalaciones

Trujillo, 16 de octubre de 2021



REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO NO ESTA PERMITIDA SIN LA AUTORIZACIÓN PREVIA Y EXPRESA DE MICROCLIN SRL.

EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 948051687

Trujillo-Perú

Web: www.microclin.com

e-mail: microclin@microclin.com

Anexo 6. Compuestos fenólicos aislados en hojas de *Carica papaya*

Grupos fenólicos	Método de identificación	Referencia
Hesperidina	UPLC-ESI-MS, H-NMR	Gogna <i>et al.</i> , 2015
Ácido caféico	UPLC-ESI-MS, H-NMR, GC-MS	Gogna <i>et al.</i> , 2015; Canini <i>et al.</i> , 2007
Ácido vainillíco	UPLC-ESI-MS, H-NMR	Gogna <i>et al.</i> , 2015
Ácido coumarico	UPLC-ESI-MS, H-NMR, GC-MS	Gogna <i>et al.</i> , 2015; Canini <i>et al.</i> , 2007
Rutina	UPLC-ESI-MS, H-NMR, HPLC-MS	Gogna <i>et al.</i> , 2015; Julianti <i>et al.</i> , 2014
Naringerina	UPLC-ESI-MS, H-NMR	Gogna <i>et al.</i> , 2015
Kaempferol	UPLC-ESI-MS, H-NMR, GC-MS, UPLC-TripleTOF-ESI-MS	Canini <i>et al.</i> , 2007; Gogna <i>et al.</i> , 2015
Ácido cinámico	UPLC-ESI-MS, H-NMR	Afzan <i>et al.</i> , 2012; Gogna <i>et al.</i> , 2015
Ácido clorogénico	UPLC-ESI-MS, H-NMR, GC-MS	Gogna <i>et al.</i> , 2015; Canini <i>et al.</i> , 2007
Ácido protocateuico	UPLC-ESI-MS, H-NMR, GC-MS	Gogna <i>et al.</i> , 2015; Canini <i>et al.</i> , 2007;
Quercetina	GC-MS, UPLC-TripleTOF-ESI-MS	Afzan <i>et al.</i> , 2012; Canini <i>et al.</i> , 2007
5,7-Dimethoxycoumarina	GC-MS	Canini <i>et al.</i> , 2007
Manghaslin	HPLC-MS	Julianti <i>et al.</i> , 2014

Fuente: Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.²²

Anexo 7. Certificación botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "PAPAYA" proporcionado por los Bachilleres Guisella Marisu Adrianzen Ruiz y Cedula Vasquez Aguilera, Tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como Carica papaya L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Brassicales
Familia: Caricaceae
Género: Carica
Especie: Carica papaya L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 21 octubre 2021


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.N. 1719


Anexo 8. Certificado de análisis de la cepa en estudio



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2020/4/8
---	---

Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm
	 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

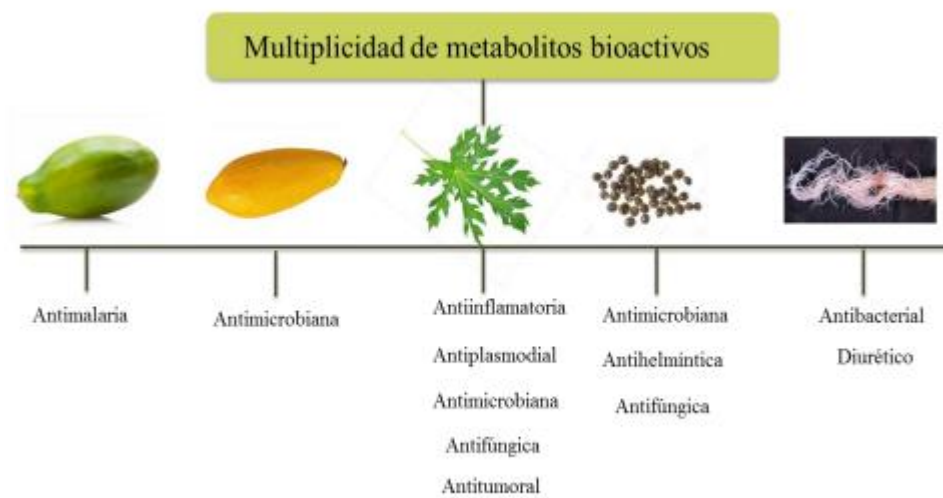
Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-508	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

Anexo 9. Esquema de aplicaciones en la medicina de los principios bio activos según el tipo de tejido aislado.



Anexo 10.

Recolección de la muestra vegetal



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Anexo 11.

Selección, lavado y secado de la muestra



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Anexo 12.

Preparación del extracto etanólico



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia